

N-(2,4-Dimethylphenoxy carbonyl)phthalimid (4a)

Eine Mischung von 29.6 g (0.20 mol) Phthalsäureanhydrid und 32.5 g (0.22 mol) 2,4-Dimethylphenylcyanat wird unter Röhren auf 180 °C erhitzt. Bei Zugabe weniger Tropfen Triäthylamin steigt die Temperatur auf 230 °C. Nach 15 min Röhren wird abgekühlt, mit etwa 50–80 ml Alkohol verrührt und das abgeschiedene (4a) abgesaugt (48 g = 81% Ausbeute).

Eingegangen am 4. November 1969 [Z 118]

[*] Dr. E. Grigat

Wissenschaftliches Laboratorium
der Zwischenproduktenteilung der Farbenfabriken
Bayer AG
509 Leverkusen-Bayerwerk

[1] E. Grigat, Angew. Chem. 81, 623 (1969); Angew. Chem. internat. Edit. 8, 607 (1969).

[2] E. Grigat u. R. Pütter, Chem. Ber. 98, 1359 (1965).

[3] Übersichten: E. Grigat u. R. Pütter, Angew. Chem. 79, 219 (1967); Angew. Chem. internat. Edit. 6, 206 (1967); D. Martin, Z. Chem. 7, 123 (1967).

Trennung von Nucleosiden an thymin- und cytidinhaltigen Polymergele

Von G. Greber und H. Schott [*]

Tuppy und Kühler^[1] konnten mit Amberlite-Ionenaustauschern, die kovalent eingebaute Nucleosidreste enthielten, aus wässrigen Lösungen zweier Nucleoside das jeweils korrespondierende Nucleosid über die Basenpaarungsreaktion nach Watson und Crick^[2] abtrennen. Diese Versuche wurden allerdings nur mit äußerst geringen Mengen (0.04 mg/0.04 ml) durchgeführt.

Inzwischen ist bekannt geworden^[3,4], daß Nucleoside nur in Chloroform oder Dimethylsulfoxid (DMSO) in ausgeprägtem Maß Basenpaarung eingehen, nicht jedoch in Wasser. Eine Trennung von Nucleosiden in präparativem Maßstab sollte deshalb an organischen Polymergele mit kovalent eingebauten Nucleosidresten möglich sein, die in diesen Lösungsmitteln quellen.

Wir haben jetzt derartige Gele hergestellt und ihre Trennfähigkeit gegenüber den Nucleosiden Thymidin (T), Adenosin (A), Cytidin (C) und Guanosin (G) getestet. Hierzu co-

Mit T-Gelen war es nicht möglich, den aus äquimolaren Mengen T und A in DMSO entstehenden 1:1-Komplex der beiden korrespondierenden Nucleoside zu trennen. Dagegen gelang es, aus Gemischen von T und überschüssigem A die über den 1:1-Komplex hinausgehende Menge A abzutrennen. Versuche mit einem analogen Blindgel, das keine eingebauten T-Reste enthält, lassen keine Wechselwirkungen und damit auch keine Trenneffekte erkennen.

Ähnliche Verhältnisse wie mit TA-Gemischen an T-Gelen wurden bei Trennversuchen von CG-Gemischen an C-Gelen gefunden. Dagegen erfolgte an C-Gelen bereits eine merkliche Trennung des 1:1-TA-Komplexes, die durch Verlängerung der Säule noch verbessert werden kann. Vollkommen getrennt werden an C-Gelen die beiden nichtklassischen 1:1-Komplexe zwischen A und G sowie T und G. Diese Ergebnisse bestätigen indirekt die für Vakuum berechneten Wechselwirkungsenergien^[6] für die klassischen und nichtklassischen Basenpaare. Danach liegt der Wert für das Basenpaar CG (−19 kcal/mol) fast dreimal so hoch wie für die anderen Kombinationen (AT = −7.0, AC = −7.8, AG = −7.5, TG = −7.4 und TC = −6.5 kcal/mol).

Arbeitsvorschrift für die Chromatographie

Glassäulen von 48 cm Länge und 1 cm Durchmesser wurden mit 18 g gequollenem T- oder C-Gelmaterial gefüllt, wobei als Quellmittel ein Gemisch aus DMSO/CHCl₃ (2:3) diente. Zur Trennung wurden die Nucleosidgemische in Mengen bis zu 100 mg in DMSO gelöst (ca. 20 mg/ml), auf die Säule aufgebracht und bei Zimmertemperatur mit einem Gemisch aus DMSO/CHCl₃ (2:3) entwickelt, wobei die Laufgeschwindigkeiten bis zu 38 ml/h betrugen. Der Trennvorgang wurde in einer Durchlaufküvette mit einem Uvicord-Ultraviolettspektrometer verfolgt und durch einen LKB-Schreiber in Form von UV-Absorptionsdiagrammen aufgezeichnet. In regelmäßigen Abständen wurden dem Eluat Proben entnommen und die Trennung der Nucleoside durch UV-Absorptionsmessungen mit einem Zeiss-Spektralphotometer PMQ II bei E₂₈₀/E₂₆₀ nm überprüft.

Eingegangen am 21. Juli 1969 [Z 77]
Auf Wunsch der Autoren erst jetzt veröffentlicht.

[*] Doz. Dr. G. Greber und Dipl.-Chem. H. Schott
Institut für makromolekulare Chemie der Universität
78 Freiburg, Stefan-Meier-Straße 31

[1] H. Tuppy u. E. Kühler, Biochem. biophysica Acta 80, 669 (1964); Mh. Chem. 95, 1677, 1691 (1964).

[2] J. D. Watson u. F. H. C. Crick, Cold Spring Harbor Sympos. quantitat. Biol. 18, 123 (1953); Nature (London) 171, 737 (1953).

[3] R. A. Newmark u. C. R. Cantor, J. Amer. chem. Soc. 90, 5010 (1968).

[4] B. W. Bangerter u. S. C. Chan, Biopolymers 6, 983 (1968).

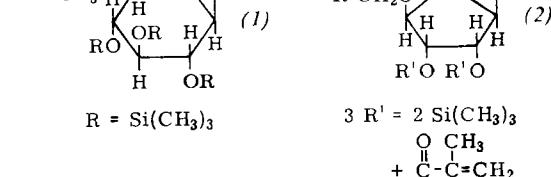
[5] Synthese von (1) und (2): G. Greber, M. L. Hallensleben, L. Bucsis u. H. Schott sowie G. Greber u. H. Schott, Makromolekulare Chem., im Druck.

[6] B. Pullman, P. Claverie u. J. Caillet, J. molecular Biol. 22, 373 (1966).

Neue Methode zur Strukturbestimmung von Hydroxysteroiden^[**]

Von E. Breitmaier, W. Voelter, G. Jung und E. Bayer [*]

Die Bestimmung von Position und Konformation der OH-Gruppe in Steroiden mit herkömmlichen chemischen und molekülspektroskopischen Methoden bereitet oft erhebliche Schwierigkeiten. Da die ¹⁹F-NMR-Spektroskopie O-trifluoracetylierter Steroide nur die OH-Gruppen erfaßt, sind die ¹⁹F-NMR-Spektren dieser Verbindungen einfach zu deutende Singulettensysteme; außerdem lassen sich die für ¹H-NMR-Messungen nötigen hohen Substanz einwaagen bei der Aufnahme der 56.4-MHz-¹⁹F-NMR-Spektren auf ein für Naturstoffe erträgliches Maß von ca. 10 µmol verringern. Neuere Messungen mit einem 94.1-MHz-Gerät ergaben, daß sich diese Einwaagen um mindestens eine weitere, unter An-



polymerisierten wir 1-[2,3,4-O-Tris(trimethylsilyl)-6-methacryloyl-β-D-glucopyranosyl]thymin (1) bzw. N⁴-Benzoyl-O^{Y'}, O^{Z'}-bis(trimethylsilyl)-O^{Y'}-methacryloyl-cytidin (2)^[5] radikalisch mit Tetramethylen-dimethacrylat zu unlöslichen, in organischen Lösungsmitteln quellbaren Polymergele mit kovalent eingebauten Thymin- bzw. Cytidinresten. Durch Abspaltung der Trimethylsilylgruppen mit Salzsäure/Aceton bzw. der Trimethylsilyl- und Benzoylgruppen mit Ammoniak/Methanol resultieren T-Gele bzw. C-Gele, die in DMSO oder DMSO/CHCl₃ quellen und sehr gute Laufeigenschaften zeigen.

Chemische Verschiebungen der CF_3 -Signale von *O*-TFA-Androstanen und -Östranen.

	<i>O</i> -TFA-Derivat von	δ (ppm)	
		C-3	C-17
	Testosteron		0.162
	5α-Dihydrotestosteron		0.181
	5β-Dihydrotestosteron		0.156
	17-Methyltestosteron		0.0
	Epiandrosteron	0.385	
	5,6-Didehydroepiandrosteron	0.347	
	6β-Hydroxy-5α-androstan-3-one	[a]	
	6β-Hydroxy-3α,5-cycloandrostan-17-one	[b]	
	5-Androsten-3β-ol	0.361	
	5α-Androstan-3β,17β-diol	0.353	0.169
	5-Androsten-3β,17β-diol	0.344	0.168
	3β,17β-Dihydroxy-5-androsten-16-one	0.326	-0.308
	Östron	-0.116	
	6α,7α-Dihydroxy-1-methyl-östron	-0.175	[c]

[a] δ (C-6) = 0.453 ppm; [b] δ (C-6) = 0.343 ppm;
 [c] δ (C-6) = -0.11 ppm; δ (C-7) = -0.03 ppm.

	<i>O</i> -TFA-Derivat von	δ (ppm)	
	C-3	C-17	
	17β-Östradiol	-0.125	0.142
	17α-Methyl-östradiol	-0.115	-0.08
	17α-Äthinyloöstradiol	-0.135	0.247

wendung des CAT-Verfahrens und der Fourier-Transformation sogar um mehrere Zehnerpotenzen vermindern lassen^[1]. Ein Vergleich der CF_3 -Signale der *O*-Trifluoracetyl-(TFA)-Gruppe an C-17 in 5α- und 5β-Dihydrotestosteron (Tabelle) zeigt, daß die Verknüpfung der von C-17 weit entfernten Ringe A und B eine deutliche Signalverschiebung im ^{19}F -NMR-Spektrum verursacht. Die ^{19}F -NMR-Spektren von 17β-Östradiol, 17α-Methyl- sowie 17α-Äthinyloöstradiol spiegeln dagegen den Einfluß der Substituenten an C-17 im Ring D auf die Lage des CF_3 -Signals der *O*-TFA-Gruppe an C-3 im Ring A wider. Weitere Beziehungen zwischen chemischer Verschiebung und Stellung der *O*-TFA-Gruppen lassen sich wie folgt zusammenfassen:

1. Das CF_3 -Signal der *O*-TFA-Gruppe an C-3 in Androstanederivaten liegt zwischen 0.33 und 0.38 ppm.
2. Bei Östranderivaten verschiebt sich das CF_3 -Signal der phenolischen *O*-TFA-Gruppe infolge des „Ringstromeffektes“ nach niedrigerer Feldstärke. Es liegt zwischen -0.11 und -0.17 ppm.
3. Das CF_3 -Signal der sekundären *O*-TFA-Gruppe an C-17 liegt zwischen 0.14 und 0.18 ppm.
4. Ist C-17 tertiar und trägt es nur gesättigte Alkylgruppen, so verschiebt sich das CF_3 -Signal der mit ihm verknüpften *O*-TFA-Gruppe nach niedrigerer Feldstärke.
5. Benachbarte elektronenziehende Substituenten wie *O*-TFA- oder Carbonylgruppen verschieben das CF_3 -Signal einer *O*-TFA-Gruppe nach niedrigerer Feldstärke.
6. Die Äthinylgruppe an C-17 in 17α-Äthinyloöstradiol verschiebt das CF_3 -Signal der 17β-*O*-TFA-Gruppe nach höherer Feldstärke.

Die *O*-TFA-Derivate können durch Umsetzung der Steroide mit Trifluoressigsäureanhydrid dargestellt werden. Vor den ^{19}F -NMR-Messungen brauchen die Rohprodukte lediglich 10 Std. bei 25 °C und 0.5 Torr über Kaliumhydroxid getrocknet und von Trifluoressigsäure befreit zu werden. Zur Aufnahme der 56.4-MHz- ^{19}F -NMR-Spektren bei 25 °C mit einem HA-60-Gerät der Firma Varian wurden 0.1 M Lösungen der *O*-TFA-Steroide in Tetrachlorkohlenstoff mit 2% Trifluoressigsäuremethylester als internem Standard hergestellt. Die chemischen Verschiebungen der CF_3 -Signale sind bei einer Meßgenauigkeit von rund $\pm 1\%$ konzentrationsunabhängig.

Eingegangen am 21. November 1969 [Z 121]

[*] Dr. E. Breitmaier, Dr. W. Voelter, Dr. G. Jung und Prof. Dr. E. Bayer
 Lehrstuhl für Organische Chemie der Universität
 74 Tübingen, Wilhelmstraße 33

[**] W. V. dankt der Deutschen Forschungsgemeinschaft für ein Habilitationsstipendium. — Den Firmen E. Merck, Ciba und F. Hoffman-La Roche danken wir für Steroidproben.

[1] ^{19}F -NMR-Spektren von *N*- und/oder *O*-TFA-Derivaten von Aminosäuren und Peptiden s. R. E. Stevers, E. Bayer u. P. Hunziker, Nature (London) 223, 179 (1969); Chem. Engng. News 47, Nr. 40, S. 56 (1969); von Polyolen und Glykosiden s. G. Jung, W. Voelter, E. Breitmaier u. E. Bayer, Tetrahedron Letters 1969, 3785; Liebigs Ann. Chem., im Druck.